

DER EINFLUß VON VIREN AUF DIE WUNDHEILUNG .
TIEREXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN

Birgit Gerber

1979

Aus der Chirurgischen Poliklinik der Universität München

Direktor: Prof. Dr. F. Holle

Der Einfluß von Viren auf die Wundheilung.

Tierexperimentelle Untersuchungen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Birgit Gerber

aus

München

1979

Mit Genehmigung des
Fachbereiches Medizin der Universität München

Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. W. L. Brückner
Mitberichterstatter: Prof. Dr. F. Holle
Dekan: Prof. Dr. W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung: 6.3.79



Meinen Eltern

in Dankbarkeit gewidmet



Digitized by the Internet Archive
in 2026

INHALT

Einleitung	7
Wundheilung - Einführung in die Thematik	8
Physiologie und Morphologie der Wundheilung, Wundheilungsstörungen, Problemstellung	
Material und Methodik	16
I. Material	16
1. Übersicht über das verwendete Material	16
2. Beschreibung der verwendeten Viren	16
a) Vaccinia-Virus	16
b) Pseudowut-Virus	19
3. Herkunft der verwendeten Viren	22
4. Kontroll-Lösung	22
5. Versuchstiere	23
II. Methodik	24
Eigene Untersuchungen	28
I. Versuchsreihen	28
1. Übersicht	28
2. Versuchsreihen I und II	29
3. Versuchsreihen III und IV	30
4. Versuchsreihen V und VI	31
II. Ergebnisse	33
1. Wundheilungsverlauf	33
a) Versuchsreihen I und II	33
b) Versuchsreihen III und IV	38
c) Versuchsreihen I, V und VI	40
2. Histologie	46

Diskussion	48
I. Gegenüberstellung der eigenen Arbeit mit der Literatur	48
1. Klinische Beobachtungen	48
2. Andere experimentelle Arbeiten	50
II. Eigene Arbeit - Besprechung, Kritik	51
Zusammenfassung	54
Literaturverzeichnis	55
Anhang	63
I. Abbildungen	63
II. Danksagung	67
III. Lebenslauf	68

EINLEITUNG

Das älteste Problem der Chirurgie überhaupt, die Heilung von Wunden, hat durch die naturwissenschaftlichen Erkenntnisse besonders der letzten 20 Jahre einen ungeahnten Aufschwung genommen. Aber immer wieder treten Störungen der Wundheilung auf, für die weder bakterielle Erreger noch andere bekannte Noxen verantwortlich gemacht werden können.

In früheren Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, daß bestimmte Viren die Heilung von Schnittwunden beeinflussen können, wenn sie direkt in die Wunden inokuliert werden. Das Ausmaß der Störung war direkt proportional zur verwendeten Viruskonzentration (Brückner et al., 1974).

Auf Anregung von Herrn Privatdozent Dr. W. L. Brückner, Oberarzt an der Chirurgischen Poliklinik (Direktor: Prof. Dr. F. Holle) der Universität München, habe ich mir die Aufgabe gestellt, zu untersuchen ob ähnliche Störungen der Wundheilung auch bei intravenöser und intraperitonealer Injektion der Viren beobachtet werden können.

Zu diesem Zweck wurden mehrere Serien von Tierexperimenten durchgeführt, bei denen Kaninchen mit künstlich gesetzten Wunden eine virushaltige Lösung injiziert wurde. Der Heilungsverlauf wurde protokollarisch und fotografisch festgehalten. Zur Erfassung möglicher bakterieller Superinfektionen wurden Abstriche mikrobiologisch untersucht. Ferner wurden excidierte Wunden histologisch untersucht.

WUNDHEILUNG - EINFÜHRUNG IN DIE THEMATIK

Physiologie und Morphologie der Wundheilung, Wundheilungsstörungen, Problemstellung

Auf der Fähigkeit des Körpers zur Wundheilung beruht praktisch die ganze Chirurgie. Die Erfolge der Magen-Darm-Chirurgie, die Konsolidierung eines Knochenbruchs, der endgültige Verschuß eines unterbundenen Gefäßes oder einer Operationswunde basieren alle auf dem biologischen Prinzip der Wundheilung im weiten Sinne des Begriffs. Daher möchte ich im Folgenden kurz den normalen Ablauf der Wundheilung und ihre Störungsmöglichkeiten beschreiben.

Jede Verwundung setzt eine Kette komplizierter Vorgänge in Gang, die an den einzelnen Geweben und Organen unterschiedlich ausgeprägt sind. Sie werden durch mannigfaltige allgemeine und lokale Faktoren (s.u.) beeinflusst und lassen sich schematisch in 3 aufeinander folgende, aber tatsächlich ineinander übergehende Phasen einteilen (Hernandez-Richter, Struck, 1970):

1. die exsudative, entzündliche Wundheilungsphase
2. die proliferative, fibroblastische Wundheilungsphase
3. die reparative Wundheilungsphase

Der verwundende Reiz verursacht nicht nur den Wundschmerz und die Wundblutung, sondern bildet zusammen mit lädierten Gewebsanteilen und ausgetretenen Blutbestandteilen einen Entzündungsreiz, den das betroffene Gewebe in Form einer Wundheilentzündung beantwortet. Als natürliche Abwehrreaktion kommt es zunächst zu einer Vasokonstriktion der Gefäße im Wundgebiet, der eine Vasodilatation und vaskuläre Stase folgt. Dies bewirkt lokale Hypoxie und Acidose. Es kommt zu einer Desaggregation und Depolymerisierung der Glykosaminoglykane, die somit ihre Wasserbindungsfähigkeit verlieren. Die Folge davon ist eine ödematöse Veränderung des Gewebes. Gleichzeitig ist die Kapillarpermeabilität erhöht. Die

Acidose übt weiter einen chemotaktischen Reiz auf Leukozyten und Makrophagen aus, die in großer Zahl in das Wundgebiet einströmen, und mit der einfließenden Zellflüssigkeit und dem Kapillarblut ein Exsudat bilden. Kurze Zeit später kann auch die erste Fibrinablagerung und eine Degranulierung der Mastzellen mit Freisetzung von Histamin, Heparin usw. beobachtet werden. Die Wunde ist von einem Wundschorf bedeckt, der gegen mechanische Einwirkung, Austrocknung und Infektion schützt.

Die proliferative Phase kann bereits 24 Stunden nach der Gewebsverletzung einsetzen. Sie ist durch ihren großen Zellreichtum gekennzeichnet. Es kommt vor allem zu einer intensiven mitotischen Aktivität der Epithelzellen in der Peripherie des Wundgebietes. Gleichzeitig beginnen die Zellen aus der benachbarten Epidermisschicht eine starke Wanderung in Richtung des Gewebsdefekts. Es wird angenommen, daß der unterbrochene Zellkontakt zwischen den Epithelzellen für diese Zellwanderung verantwortlich ist. Ein normalerweise vorhandenes Inhibitorsystem soll damit aufgehoben sein. Als dominierender Zelltyp der proliferativen Phase stehen die Fibroblasten im Vordergrund des Geschehens. Ihr Ursprung ist noch ungeklärt. Einerseits wird behauptet, daß die Fibroblasten lokal aus den Adventitialzellen entstehen, und dann aus der Peripherie in das Wundgebiet einwandern. Einer anderen Meinung zufolge sollen sie direkt aus den Blutzellen entstehen. Vielleicht sind beide Mechanismen möglich. Außer den Fibroblasten werden auch bald in größerer Zahl Makrophagen oder Histiozyten im Wundgebiet beobachtet, die Fremdkörper und totes Material aufnehmen können.

Zwischen dem 4. und 6. Tag nach der Verletzung kann man die ersten Anzeichen der letzten, der reparativen Wundheilungsphase beobachten. Es bilden sich feine Kollagenfasern, die zuerst noch völlig unregelmäßig angeordnet sind. Die Anzahl der Fibroblasten nimmt ab. Die Kollagenbündel werden dicker und dichter und ordnen sich in die Hauptspannungsrichtung der Wunde. Die Reißfestigkeit nimmt zu. Die ge-

schlossene, zunächst sich noch durch die stark proliferierenden Epithelzellen verdickende Epithelschicht geht allmählich durch Abnahme der Mitosen auf ihre normalen Ausmaße zurück. Die zahlreichen Kapillaren werden durch die dichten Kollagenfasern zusammengedrängt und durch, sich von der Kapillarwand ablösende, verdickte Endothelzellen teilweise verstopft. Somit tritt eine Devaskularisierung ein. Eine Regenerierung der Hautanhangsgebilde wie Haarfollikel, Talgdrüsen u.a. ist noch umstritten. Die vorher rötlich scheinende, indurierte Narbe wird mit der Zeit blaß und weich. Bei normalem Verlauf kann je nach Größe und Art der Verletzung und des Ausmaßes der Entzündung nach etwa 4 Wochen vom morphologischen Standpunkt eine vollständige Regeneration des Gewebes erwartet werden.

Dieser normale Ablauf der Wundheilung kann durch viele Faktoren beeinflußt werden. Als Ursachen für eine gestörte Wundheilung werden heute allgemeine Faktoren, pathologisch oder exogen bedingte Stoffwechseleränderungen und vor allem lokale Faktoren angesehen (Hernandez-Richter, 1970):

Unter dem Oberbegriff "Allgemeine Faktoren" werden zusammengefaßt Allgemeininfektionen, maligne Tumoren und genetisch bedingte Stoffwechseleränderungen:

Bei einer bakteriellen Allgemeininfektion zeigen frische Wunden kaum Fibrinbildung und bleiben völlig reaktionslos. Vorhandene ältere Wunden sind trocken, jede Sekretion sistiert. Es bildet sich kein gesundes Granulationsgewebe.

Maligne Tumoren haben aufgrund ihrer allgemeinen Organwirkung auch einen wesentlichen Einfluß auf den Verlauf der Wundheilung. Als wichtigste Störfaktoren sind hier vor allem die sich meist einstellende sekundäre Anämie, die Hypoproteinämie und spätere Krebskachexie, sowie der ebenfalls oft beobachtete Vitamin-C-Mangel zu erwähnen.

Ein Zusammenhang zwischen den genetisch bedingten Stoffwechseleränderungen und der Wundheilung besteht nur aufgrund allgemeiner Faktoren, wie Störung des Kohlehydrat-, Aminosäure- und Proteinstoffwechsels, oder auch Anomalien, die Gefäße oder Transport- bzw. Quellungsmechanismen beeinflussen.

Zu den ursächlichen Faktoren einer pathologisch bedingten Stoffwechseländerung werden u.a. Avitaminosen, Lathyrismus, Sklerodermie, Bindegewebskrankheiten, hormonelle Anomalien, Leber- und Fibrinstoffwechselschädigung gezählt:

Die Wundheilungsstörung bei Avitaminosen ist gekennzeichnet durch Abnahme der epidermalen Regeneration, Störung des Glykosaminoglykanstoffwechsels (Vitamin C), Beeinträchtigung der Kollagenbildung (Vit. C und A), Verlängerung der Blutungszeit und Begünstigung von Hämatomen und Seromen (Vit. K), negative Stickstoffbilanz, Hypoproteinämie mit Fissuren und Rhagaden von Haut und Schleimhaut (Vit. B₂) usw.

Die stark verzögerte Wundheilung beim Lathyrismus läßt sich auf die ausbleibende Quervernetzung des löslichen Kollagens zurückführen.

Über die Beeinflussung der Wunde durch die Sklerodermie liegen keine experimentellen Befunde vor. Handelt es sich um einen frischen umschriebenen Befall, so wird bei zusätzlicher Wunde wegen der ödematös-entzündlichen Reaktion ein Aufweichen der Wunde mit folgendem sekundären Heilungsverlauf eintreten. Chronischere Formen weisen Atrophie des Papillarkörpers und der Subcutis auf, so daß hier eine verlangsamte Wundreaktion mit verzögerter Granulationsgewebs- und Faserbildung und Neigung zu Infektionen zu erwarten ist.

Außer dem bereits erwähnten Lathyrismus und der Sklerodermie gibt es noch zahlreiche andere Krankheitsbilder, die eine Veränderung des Bindegewebes bzw. des Kollagens verursachen, und damit eine verzögerte Wundheilung in den befallenen Bereichen bewirken. Hier sind u.a. die Dupuytren-Kontraktur, die Primär Chronische Polyarthrit, der Lupus erythematoses, die Dermatomyositis zu nennen.

Hormonelle Stoffwechselstörungen verursachen im wesentlichen die gleichen Wundheilungsstörungen wie bei zugeführten exogenen Hormonen (s.u.). Beim Cushing-Syndrom besteht durch den meist vorhandenen Überschuß an Corticosteroiden eine deutliche Hemmung der Wundheilung. Sowohl die Wundfestigkeit als auch die Elastizität sind herabgesetzt. Sehr häufig beobachtet

man Stichkanalleitungen, Aufweichen der Wundränder und sekundären Heilungsverlauf mit Einschmelzen des Wundrandes und des Wundgrundes. Bei Patienten mit Marfan-Syndrom wird angenommen, daß der Übergang vom löslichen zum unlöslichen Kollagen ähnlich wie beim Lathyrismus gestört sei; das würde aber bedeuten, daß auch hier eine gestörte Wundheilung die Folge wäre. Experimentelle Befunde liegen darüber nicht vor. Beim Hyperparathyreoidismus ist ein vermehrter Kollagenabbau beobachtet worden.

Schwere Lebererkrankungen stören u.a. den Stoffwechsel des, für die Wundheilung wichtigen Fibrins erheblich. Im entzündlichen Stadium einer Hepatitis findet sich ein hoher Fibrinogenspiegel, bei Zirrhosen besteht eine erhöhte fibrinolytische Aktivität. Beim Verschlusßikterus wird zu wenig Vitamin K resorbiert. Man findet daher bei derartigen Kranken eine hämorrhagische Diathese, Veränderungen im Stoffwechsel der Kohlenhydrate, Fette und Proteine. Dadurch wird jede Wundheilung besonders in der exsudativen und beginnenden proliferativen Phase verlangsamt. Nach chirurgischen Eingriffen besteht eine erhöhte Neigung zur Bildung von Hämatomen, Seromen und Wunddehiszenz.

Exogen bedingte Stoffwechselstörungen, die ggf. zu einer Störung der Wundheilung führen können, sind z.B. Antibiotika, Hormone, Zytostatika, Antikoagulantien, Eiweißmangel, Verbrennung, Strahlenschädigung und mechanische Einwirkungen: Die Antibiotika gehören zu den am meisten in der Chirurgie verwendeten Arzneimitteln. Es hat sich gezeigt, daß viele von ihnen die Wundheilung beeinträchtigen können, durch Hemmung der Kollagensynthese und Wundfestigkeit, Hemmung der Hautatmung und durch lokale Reizwirkung. Bei der örtlichen Verabreichung von Antibiotika hält Fuss (1959) neben einer Änderung des pH schwere Zellschäden bis zur Nekrose für möglich.

Bei den Hormonen ist vor allem das Cortison zu nennen. Es verursacht ebenso wie das ACTH eine eindeutige Hemmung der Wundheilung, die alle Bindegewebskomponenten, wie Grund-

substanz, Zellen und Fasern erfaßt. Ähnliche Hemmwirkung auf den Heilungsverlauf haben auch Thyroxin und Östrogene. Zytostatica beeinflussen auf Grund ihrer allgemein zelltoxischen Wirkung auch das regenerierende Wundgewebe. Es findet sich eine stark verlangsamte Wundheilung mit Neigung zu sekundärem Verlauf und Störungen der Granulationsgewebsbildung. Bei Verwendung von Antikoagulantien im Anfangsstadium der Wundheilung ist mit ernsthaften Störungen zu rechnen. Die verminderte Fibrinbildung beeinträchtigt die Verklebung des Wundspaltes und damit die Wundfestigkeit; die Granulationsgewebsbildung kann sich beträchtlich verzögern. Im weiteren Verlauf kommt es aber zu den normalen proliferierenden und regenerativen Wundheilungsvorgängen. Auch andere Medikamente wie Sulfonamide, Phenylbutazon, Na-salicylat usw. stören die Wundheilung.

Die Bedeutung der ausreichenden Eiweißaufnahme für die Wundheilung ist schon lange bekannt. Bei Proteinmangel wird die Bindegewebsregeneration wesentlich verzögert. Die Sulfurierung der Glykosaminoglykane ist gestört. Die Zahl der Fibroblasten im Wundgebiet ist deutlich verringert und daher auch die Kollagensynthese und die Wundfestigkeit. Infolge der Ödemeigung kommt es zu gehäuftem Auftreten von Wundinfektionen, die zu Wunddehiszenzen führen können.

Bei der Verbrennung wird der normale Wundheilungsverlauf, außer durch den Eiweiß- und Sekretverlust, noch durch einige besondere Faktoren beeinflusst. Es entstehen verkohlte organische Rückstände, die die Epithelisierung der Wunde verzögern. Außerdem entstehen vermehrt entzündungsfördernde Substanzen; es bildet sich ein idealer Nährboden für pathogene Keime, so daß stets Infektionen auftreten.

Strahlen hemmen die Wundheilung hauptsächlich in der proliferativen Phase. Die Fibroblastenbildung ist vermindert, es treten atypische Formen auf. Außerdem kommt es zu Gewebsödem und Seromen infolge Störung der Kapillarpermeabilität und dadurch wieder zu stärkerer Infektionsanfälligkeit. Selbst die mechanische Wundbehandlung kann Störungen hervor-

rufen. Hier sind vor allem Gewebsverletzungen durch Instrumente, Nahtmaterial, multiple Ligaturen, zu ausgedehnte elektrochirurgische Maßnahmen und Fremdkörpergranulome durch Talcum oder Reispuder zu nennen.

Hauptursachen für eine gestörte Wundheilung sind lokale Faktoren: Hämatome und Serome, sowie vor allen Dingen lokale Infektionen:

Hohlräume, die im Bereich der Wunde zurückbleiben, füllen sich mit Erythrozyten, Serum, Lymphe oder verflüssigtem Fett. Sie können den Heilungsverlauf mechanisch beeinträchtigen. Mangelhafte Blutstillung führt oft zu postoperativen Hämatomen, die die Wandschichten auseinander drängen. Ausgedehnte elektrochirurgische Maßnahmen und zahlreiche Ligaturen können ebenfalls Serome verursachen. All diese Faktoren bilden einen günstigen Nährboden zur Vermehrung pathogener Keime. Die häufigste Ursache einer örtlichen Wundheilungsstörung aber ist die Infektion durch Verunreinigung einer sauberen Operations- oder Gelegenheitswunde mit Keimen. Man unterscheidet nach Brunner (1916) zwischen Mono- und Polyinfektion, wobei die Mischinfektion mit Vorherrschen eines bestimmten Erregers meist überwiegt. Hellner (1952) vermittelt eine Übersicht über die, bei chirurgischen Wundinfektionen wesentlichen Erreger und Gewebsreaktionen:

Pyogene Erreger (Staphylokokken, Streptokokken, Gonokokken, Pneumokokken, Coli, Pyocyaneus, Typhusbakterien) führen zu Rötung, Hitze, Schwellung und Schmerzen. Pathologisch-anatomisch findet man bakterielle Nekrosen, eitrige Entzündung und Eiterbildung.

Putride Erreger (Proteus, Coli, Streptokokken, Rauschbrandbazillus, Bacillus emphysematicus, Bacillus gigas) führen zu einer gangräneszrierenden Entzündung mit schaumig zerfallendem Gewebe und Fäulnisgasbildung.

Anaerobe Erreger (Clostridium perfringens, C. histolyticum) führen zu Hämolyse, Gasbildung, Gefäßwandschädigung und ausgedehnten Nekrosen. Es finden sich keine Zeichen einer eitrigen Entzündung.

Toxische Erreger (*Corynebacterium diphtheriae*, *Clostridium tetani*) bewirken fibrinöse Wundbeläge, graurötliche, schwer ablösbare Auflagerungen und jauchigen Gewebezzerfall. Die Wunden können aber auch völlig reizlos oder wie nach pyogener, putrider oder anaerober Infektion aussehen.

Viren als lokale Störfaktoren der Wundheilung werden in der Literatur erstmals 1972 von Brückner, Lewitzka et al. beschrieben. Sie konnten durch systematische Untersuchungen im Tierexperiment nachweisen, daß bestimmte Viren, die sich in den Zellen der Hautschichten vermehren können, in der Lage sind die Heilung von Schnittwunden zu beeinflussen, wenn sie direkt in die Wunde eingebracht werden. Auch einige klinische Beobachtungen bei Verbrennungen und Herpes-Virus-Infektion könnten auf eine Mitwirkung von Viren bei Störungen der Wundheilung hinweisen (Torstenson, 1970; Foley, 1970; Gallagher, 1970; Scott, 1952 - Näheres s. Diskussion). Da Viren als obligate Zellparasiten die Fähigkeit besitzen, den Synthese-Apparat der Wirtszelle auf die Bildung von Nachkommen viren umzustellen und damit den Zellstoffwechsel schwer zu schädigen, wird es verständlich, daß sie in bestimmten Fällen auch die Wundheilung, die ja auf gesunde, teilungsfähige Zellen angewiesen ist, negativ beeinflussen können.

Die vorliegende Arbeit befaßt sich, aufbauend auf den oben erwähnten Untersuchungen von Herrn Privatdozent Dr. Brückner und H.J. Lewitzka, mit der Frage, ob eine Wundheilungsstörung auch dann eintritt, wenn die Viren nicht direkt in die Wunde inokuliert werden, sondern auf anderen Infektionswegen in die Wunde gelangen. Denn in vivo dürfte die direkte Infektion einer Wunde mit Viren über eine Schmierinfektion oder aerogene Infektion weniger häufig sein als die Kontamination der Wunde mit Viren auf hämatogenem, lymphogenem und neurogenem Weg.

MATERIAL UND METHODIK

I. Material

1. Übersicht über das verwendete Material

Viren: Vaccinia - Viren

Pseudowut - Viren

Kontrolllösung

Versuchstiere

2. Beschreibung der verwendeten Viren

a) Vaccinia - Virus

Synonym : Orthopoxvirus commune

Das Vaccinia-Virus gehört zur Familie der Poxviridae, die folgende Untergruppen besitzt: Orthopoxvirus, Avipoxvirus, Ungulopoxvirus, Lepopoxvirus, Entomopoxvirus, Parapoxvirus und einige selbstständige Arten (Herrlich, 1967; Mayr, Mahnel, Munz, 1972).

Der Ursprung dieses Virus ist noch nicht sicher geklärt. Einige Autoren halten eine Abstammung vom Variola-Virus für wahrscheinlich, andere eine Abstammung vom Kuhpocken-Virus. Es könnte sich aber auch um eine Kreuzung der beiden genannten Viren handeln (Bedson, Dumbell, 1964). Nach

unseren heutigen Erkenntnissen dürfte dieses Virus mit dem breitesten Wirtsspektrum aller Pockenviren eine Art "Urpockenvirus" darstellen, von dem sich die anderen Pockenvirusarten differenzierten.

Morphologie und physikalisch-chemische Eigenschaften der Vaccinia-Viren: Das Virion hat einen Durchmesser von 200 - 240 nm, eine Länge von 300 - 380 nm und eine Dichte von 1,10 - 1,33 g/ml. Das Virus enthält doppelsträngige Desoxyribonukleinsäure mit einem Molekulargewicht von 160×10^6 bis 240×10^6 . Es besitzt eine Doppelmembran (Hauptbestandteil ist Protein) und ist komplex aufgebaut. Virussuspensionen werden bei Temperaturen von 60°C innerhalb von 10 Minuten inaktiviert; gefriergetrocknete Viren dagegen sind wesentlich widerstandsfähiger. Das Virus ist ätherstabil, wird aber durch Chloroform, oxidierende Substanzen (Äthylenoxid u.a.) und SH-reaktive Agentien inaktiviert.

Pockenvirus-Reproduktion: Der langsame Entwicklungszyklus dieser Viren findet im Cytoplasma statt. Die Außenhüllen werden meist während der Passage durch die Zellmembran entfernt und nur die Nukleokapside erscheinen in den "Factories", den eigentlichen Replikationsorganen. Das "Uncoating" des Nukleokapsids erfolgt durch ein spezielles Wirtsprotein, dessen Synthese aber erst durch eine Proteinkomponente des Virions induziert wird. Unter den vielen Enzymen, die nach der Entfernung des Hüllproteins produziert

werden, finden sich eine Thymidin-Kinase, eine DNS-Polymerase und mehrere Nukleasen. Strukturproteine des Virions werden durch serologische oder elektrophoretische Methoden nach 2 Stunden nachweisbar. Auf der anderen Seite ist die DNS-Synthese-Rate nach 2 1/2 Stunden maximal. Das vollständige Virus erscheint erstmalig nach 6 Stunden. Der gesamte Entwicklungszyklus benötigt ca 20 Stunden (Fraenkel-Conrat, 1974).

Klinische Erscheinungen: Das Wirtsspektrum der Vaccinia-Viren ist sehr groß. Fast alle Säugetiere können erkranken. Die Erkrankung nach Infektion mit dem dermatropen bzw. epitheliotropen Vaccinia-Virus verläuft meist lokal, begrenzt auf bestimmte Hautstellen, Schleimhäute oder Organe. Es entwickeln sich Hautinfiltrate, Papeln, Bläschen und Pusteln, die sich ohne bleibende Defekte rasch zurückbilden. Verminderte Umgebungstemperatur kann die Infiltratbildung verzögern. Andere Verlaufsformen wie wulstige Hautinfiltrate mit zentralen Nekrosen und petechiale Blutungen sind möglich (Herrlich, Mayr, 1954). Die intrazelluläre Vermehrung kann durch die heterozyklischen Thiosemicarbazone gehemmt werden. (Bauer et al., 1962).

Bei meinen Versuchen verwendete ich Vaccinia-Virus Stamm "Elstree", den Referenzstamm der Weltgesundheitsorganisation WHO. Das Virus wurde in Gewebekulturen von Hühnerembryofibroblasten über mehrere Passagen gezüchtet. Es war in reiner Rinderamnionflüssigkeit mit Zusatz von Phenolrot, Streptomycin und Penicillin suspendiert.

b) Pseudowut - Virus

Synonyma : Aujeszky - Virus, Herpesvirus suis

Das Pseudowut-Virus gehört auf Grund seiner morphologischen Struktur und seiner chemischen Eigenschaften zur Familie der Herpesviren.

Die Aujeszky'sche Krankheit (Synonyma: Pseudowut, infektiöse Bulbärparalyse, Mad Itch) wurde erstmals 1902 als eigenständige Krankheit verschiedener Haustiere von Aujeszky beschrieben. Er unterschied sie von der Tollwut, mit der sie gewisse Ähnlichkeit hat. Weitere Angaben über die, vom Pseudowut-Virus hervorgerufene, Krankheit stammen aus Amerika, wo Beobachtungen über die, unter dem Namen "Mad Itch" bekannte, Krankheit schon aus dem Jahre 1813 vorliegen (Hanson, 1954). In Europa scheint die Aujeszky'sche Krankheit erstmals in der Schweiz im Jahre 1849 vorgekommen zu sein (Wyssmann, 1942). Die Krankheit wurde seinerzeit mit zahlreichen anderen Infektionskrankheiten verwechselt, insbesondere mit der Tollwut.

Morphologie und physikalisch-chemische Eigenschaften der Pseudowut-Viren: Das Virion hat einen Durchmesser von 180 - 250 nm, das Nukleokapsid einen Durchmesser von 80 nm. Das Kapsid ist kubisch aufgebaut. Es besteht wie auch beim Herpesvirus aus 162 radial angeordneten Kapsomeren; die Kapsiddicke beträgt 10 - 15 nm. Das Pseudowut-Virus enthält Desoxyribonukleinsäure. Die Nukleinsäure hat ein

Molekulargewicht von 40×10^6 bis 80×10^6 und ist doppelsträngig. Das Virus besitzt eine Hülle. Es verhält sich gegenüber Äther und Chloroform labil; dies ist eine Folge des Lipidgehaltes seiner Außenhülle. Oberflächenprojektionen sind nicht bekannt. Die Dichte des Virions beträgt 1,26 - 1,28 g/ml.

Reproduktion der Pseudowut-Viren: Die virale Desoxyribonukleinsäure und die icosaedralen Kapside bilden sich im Zellkern; manchmal werden Kristalle gebildet. Die Nukleokapside bekommen eine Außenhülle während sie durch die Kernmembran knospen, und finden sich dann in den cytoplasmatischen Vakuolen, bevor sie die Zelle verlassen.

Infektionsspektrum: Das Infektionsspektrum der Pseudowut-Viren ist ziemlich breit. Unter natürlichen Verhältnissen erkranken Schweine, Rinder, Ziegen, Schafe und Hunde. Außer den Haustieren können auch Iltisse, Dachse, Wildschweine und Ratten erkranken. Experimentell ist das Virus übertragbar auf alle kleineren Labortiere, auch Hausgeflügel usw. Einhufer und Primaten besitzen die höchste natürliche Resistenz und erkranken nur sehr selten.

Beim Menschen sind Erkrankungen äußerst selten und verlaufen harmlos. In der Literatur werden einige abortive Fälle bei Laborpersonal, das mit Pseudowut-Viren gearbeitet hat, angeführt (v. Ratz, 1913; Tuncman, 1938; Bugeac, 1955). Beim Menschen ist die Erkrankung bei einer kurzen Inkuba-

tionsperiode durch das Auftreten von Juckreiz an Händen, Armen und Schultern, sowie durch Schwäche in den Beinen gekennzeichnet (Wildführ, 1961). Hussel, Neubert und Liebisch (1963) beschreiben die Erkrankung von vier Menschen im Laufe eines schweren Seuchenzuges. Alle klagten über Halsschmerzen, Schlaflosigkeit und Schwäche in den Beinen. Von Ratz beschreibt zwei Wundinfektionen, die mit starkem Juckreiz und einer örtlichen Entzündung an der Infektionsstelle einhergingen.

Klinische Erscheinungen beim Tier: Die Symptomatologie der akuten Virusinfektion ist sehr vielgestaltig. Sie bietet außer Fieber und Allgemeinerscheinungen ein für die Enzephalomyelitis charakteristisches Bild und geht bei den meisten Tieren mit heftigem Juckreiz und Agitationerscheinungen einher, die mit einer Paralyse kurz vor dem Tod enden. In Schweinen erzeugt das Virus meist nur eine leichte, häufig inapparent verlaufende respiratorische Infektion. Das Pseudowut-Virus wird zuerst in Blut, Milz, Leber und Lunge, später im Zentralnervensystem gefunden. Es kann Abkömmlinge aller drei Keimblätter befallen. Die inneren Organe zeigen mehr oder weniger schwere kongestiv-hämorrhagische und degenerative Läsionen. Eine latente Infektion ist auch möglich im Bereich von Muskel und Haut, die von sensorischen Nerven kontrolliert werden (Starke, Hlinak, 1972).

Bei meinen Versuchen wurde Pseudowut-Virus Stamm "Hannover II" verwendet. Es wurde von erkrankten Schweinen

isoliert und auf primären Schweinenierenkulturen über drei Passagen angezüchtet. Anschließend wurde das Virus in Hühnerembryofibroblastenkulturen über vier Passagen vermehrt. Es war in reiner Rinderamnionflüssigkeit mit Zusatz von Phenolrot, Streptomycin und Penicillin suspendiert.

3. Herkunft der verwendeten Viren

Vaccinia-Viren und Pseudowut-Viren erhielt ich von Prof. Dr. H. Mahnel vom Institut für Mikrobiologie und Infektionskrankheiten der Tiere (Direktor: Prof. Dr. A. Mayr) der Universität München. Der Virusgehalt wurde durch Titrierung in Zellkulturen bestimmt und in KID_{50}/ml (50% kultur-infektiöse Dosis) angegeben. Im Folgenden kurz als VE/ml (Virus-einheit/ml) bezeichnet.

4. Kontroll - Lösung

In jeder Versuchsreihe (s.u.) wurde mindestens einem Kaninchen die reine Virus-Nährlösung ohne Viren, d.h. die Kontroll-Lösung, i.v. bzw. i.p. appliziert. Damit sollte ausgeschlossen werden, daß etwaige Beobachtungen im Verlaufe meiner Versuche von der Nährlösung, in der sich die Viren befanden, ausgehen könnten.

Die Kontroll-Lösung bestand aus reiner Rinderamnionflüssigkeit. Diese Flüssigkeit entspricht dem Erhaltungsmedium der Hühnerembryo-Fibroblastenkultur. Die Lösungen waren mit einer zweiprozentigen Phenolrot-Lösung versetzt.

Phenolrot (Phenolphthalein) dient routinemäßig als neutraler Indikator zur pH-Kontrolle der Zellkulturen, da er ohne Einfluß auf die Zellen ist. Den Kulturmedien, Viruslösungen und der Kontroll-Lösung sind außerdem 100 Internationale Einheiten Penicillin pro ml und 100 Gamma Streptomycin pro ml zur Vermeidung einer bakteriellen Kontamination zugesetzt.

5. Versuchstiere

Bei den Versuchen wurden ausschließlich weiße SPF (specific pathogen free) - Kaninchen, sogenannte Russen verwendet. Diese Tiere sind für Vaccinia- und Pseudowut-Viren gut empfänglich. Alle Kaninchen waren männlich, mit einem Körpergewicht von 1,5 - 2,5kg. Sie hatten ein Alter von mindestens 12 Wochen und höchstens einem Jahr.

Die Tiere wurden jeweils vor Versuchsbeginn von tierärztlicher Seite untersucht, so daß weitgehend ausgeschlossen werden konnte, daß Versuche an erkrankten Tieren vorgenommen wurden.

Jedes Tier, das während der Versuche starb, wurde zur Feststellung der Todesursache im pathologischen Institut der Bayrischen Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung untersucht.

Die Kaninchen stammten alle aus den Beständen der Versuchstierzuchtanstalt Willi Gassner - Sulzfeld.

II. Methodik

Der Heilungsverlauf künstlich gesetzter Schnittwunden wurde an virus-infizierten Kaninchen und zum Vergleich auch an nicht infizierten Kontroll-Tieren untersucht.

Am Tag vor der Operation wurde der Rücken der Kaninchen auf einer Fläche von ca $8 \times 18 \text{ cm}^2$ enthaart. Die Tiere wurden zuerst geschoren und anschließend mit Pilca^R-Enthaarungscreme behandelt (Einwirkungszeit 2 - 3 min). Ich legte besonderen Wert darauf, kleinere Verletzungen zu vermeiden und die Enthaarungscreme rechtzeitig und vollständig zu entfernen.

Die Kaninchen wurden mit Nembutal^R (= Pentobarbital-Natrium) narkotisiert. Dazu wurden ca 0,8 ml Nembutal/kg Körpergewicht, das entspricht einer Menge von 40 mg/kg, langsam in eine Ohrvene injiziert.

Die virushaltige Lösung bzw. die Nährlösung ohne Viren (= Kontroll-Lösung) wurden in den Versuchsreihen I-IV sofort im Anschluß an die Narkotisierung intravenös oder intraperitoneal appliziert; in den Versuchsreihen V und VI dagegen schon 4 bzw. 8 Tage vor dem Operationstermin. Dadurch erhielten wir virusinfizierte Kaninchen und nicht infizierte Kaninchen, d.h. Tiere, die nur die Nährlösung der Viren erhielten und deren Wunden zur Kontrolle dienten.

Unter sterilen Bedingungen wurden nun auf dem Rücken der Tiere, beidseits der Wirbelsäule, Schnittwunden bis zur Muskelfascie gesetzt. Je nach Größe der Tiere waren es auf jeder Seite 5 bis 8, 2,5 cm lange Querschnitte. Die Incisionen wurden dann sofort mit zwei Prolene^R-Einzelnähten verschlossen. Es wurde kein Verband angebracht.

Die Kaninchen wurden in Einzelkäfigen gehalten und mit Standard-Trockenfutter und Wasser gefüttert. Die Raumtemperatur während der Versuche betrug zwischen 17 und 20 C.

Täglich wurden die Tiere von mir kontrolliert. Der Heilungsverlauf jeder einzelnen Wunde wurde in einem, für diese Versuche ausgearbeiteten, schematisierten Protokollblatt festgehalten. Zusätzlich wurden die Wunden in regelmäßigen Zeitabständen fotografiert. Um eventuelle bakterielle Superinfektionen ausschließen zu können, wurden von den Wunden Abstriche für eine mikrobiologische Untersuchung gemacht. Außerdem wurden bei einigen Tieren Wunden excidiert, die später histologisch ausgewertet wurden.

Abbildung 1 zeigt eines der Versuchsprotokolle. Es wurden folgende Eintragungen gemacht:
Nummer, Farbe und Gewicht des Tieres, Datum der Operation, Art der Narkose und injizierte Menge des Pharmakons,

Operationsverlauf, Datum der Entnahme von Probeexcisionen und Numerierung dieser Präparate, Nummer der Versuchsreihe, Code-Nummer des Kaninchens für Photographien, Wundabstriche, Histologie usw., Art, Menge und Konzentration der verwendeten Viruslösung, Datum der Entnahme von Wundabstrichen für mikrobiologische Untersuchungen, Datum des Tages, an dem das Tier ggf. verstarb, sowie die Todesursache.

In der unteren Hälfte des Protokolls wurde für jede einzelne Wunde täglich der Wundheilungsverlauf eingetragen:

✓ = störungsfreier Heilungsverlauf, - = gestörter Heilungsverlauf, R = Rötung, S = Schwellung usw.

Hase Nr.: 4.....8..... Versuchsreihe:III.....
Farbe: weiß... Gew.: 1,6kg Photo-Code: ...III/8.....
Op. am: ..27..Nov..1975.. inf. mit: 0,5 ml Pseudow. i.v.
Narkose: 1,2 ml Nembutal. Konzentration: 10⁷ VE/ml.....
Op.-Verlauf: ohne Kompl. Abstr. entn.: 29. Nov. 1975.
Präp. entn.: 30. Nov.:
p.m. alle Wunden..... ex.:30. Nov. 1975.....
Präp. Nr.: ...III/8..... Ursache: akutes Kreislaufvers.

postop. Tag

rechts

5. Schnittwunden



10	9	8	7	6	5	4	3	2	1		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
							(-)	✓	✓	- 1 -	✓	✓	✓							
							R	(R)	✓	- 2 -	✓	✓	R							
							R	✓	✓	- 3 -	✓	-	R							
							R	(-)	✓	- 4 -	(R)	R	R							
							R	R	(R)	- 5 -	✓	✓	(R)							
							SD	S					(-)							
										6										

Abb. 1

Text s.S.25

10.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

I. Versuchsreihen

1. Übersicht

Die Untersuchungen wurden in sechs verschiedene Versuchsreihen eingeteilt. Diese benannte ich fortlaufend mit den Ziffern I, II, III usw. In jeder dieser Versuchsreihen wurden den Kaninchen praeoperativ Vaccinia- oder Pseudowut-Viren auf verschiedenen Infektionswegen, intravenös bzw. intraperitoneal, appliziert, oder es wurden Vaccinia-Viren vier bzw. acht Tage praeoperativ intravenös injiziert:

- | | | | | |
|--------------|---|-----------------|---|------------------------|
| V.-reihe I | : | Vaccinia-Viren | : | i.v. |
| V.-reihe II | : | Vaccinia-Viren | : | i.p. |
| V.-reihe III | : | Pseudowut-Viren | : | i.v. |
| V.-reihe IV | : | Pseudowut-Viren | : | i.p. |
| V.-reihe V | : | Vaccinia-Viren | : | 4 Tge praeop.,
i.v. |
| V.-reihe VI | : | Vaccinia-Viren | : | 8 Tge praeop.,
i.v. |

2. Versuchsreihen I und II

a) Allgemeines

In den Versuchsreihen I und II wurden Vaccinia-Viren, Stamm "Elstree", auf verschiedenen Infektionswegen, i.v. bzw. i.p., appliziert. Von den 12 Kaninchen, die zur Beobachtung des Heilungsverlaufes dienten, wurden 9 Tiere mit insgesamt 103 Wunden mit den Viren infiziert, die restlichen 3 Tiere mit insgesamt 30 Wunden erhielten die Kontroll-Lösung. Bei 3 Tieren wurde die Rückenhaut mit den Wunden post mortem excidiert und histologisch untersucht.

b) Versuchsreihe I

Vaccinia-Viren wurden in einer Konzentration von 10^7 Virus - Einheiten pro ml (VE/ml) intravenös appliziert. Von den 7 verwendeten Kaninchen erhielten 5 Tiere mit insgesamt 55 Wunden je 0,5 ml der Viruslösung i.v., 2 Tiere mit insgesamt 20 Wunden erhielten 0,5 ml der RAF-Kontroll-Lösung i.v. injiziert. Bei 2 Tieren wurden post mortem (p.m.), am 5. bzw. 8. postop. Tag, alle Wunden excidiert. Diese Probeexcisionen wurden sofort in Formalin gegeben und später histologisch untersucht.

c) Versuchsreihe II

Vaccinia-Viren wurden in einer Konzentration von $10^{7,5}$ VE/ml intraperitoneal appliziert. Von den 5 verwendeten

Kaninchen erhielten 4 mit insgesamt 48 Wunden je 0,5 ml der Viruslösung i.p., 1 Tier mit 10 Wunden 0,5 ml der Kontroll-Lösung i.p.. Bei einem Tier wurden p.m., am 7. postop. Tag, sämtliche Wunden für die histologische Untersuchung excidiert.

3. Versuchsreihen III und IV

a) Allgemeines

In den Versuchsreihen III und IV wurden Pseudowut-Viren Stamm "Hannover II" i.v. bzw. i.p. injiziert. Von den 10 verwendeten Kaninchen wurden 9 Tiere mit insgesamt 81 Wunden mit den Viren infiziert, 1 Tier mit 10 Wunden erhielt die Kontroll-Lösung.

Die mit Pseudowut-Viren infizierten Tiere starben alle nach 3 bis 4 Tagen an einer zentral-nervösen Lähmung in Folge der Virus-Infektion. Deshalb konnte der Heilungsverlauf nur bis zu diesem Zeitpunkt und nicht bis zur möglichen Ausheilung beobachtet werden. Bei den verstorbenen Tieren wurde die Rückenhaut mit den Wunden excidiert, und später histologisch untersucht. Außerdem wurden Abstriche für die bakteriologische Untersuchung abgenommen.

b) Versuchsreihe III

Pseudowut-Viren wurden in einer Konzentration von 10^7 VE/ml intravenös injiziert. Von den 6 verwendeten

Kaninchen erhielten 4 Tiere mit insgesamt 38 Wunden je 0,5 ml der Viruslösung i.v., 1 Tier mit 10 Wunden erhielt 0,5 ml der Kontroll-Lösung i.v.. Ein weiteres Kaninchen wurde mit 0,5 ml der Viruslösung infiziert, der Rücken wurde wie bei den anderen Tieren enthaart, es wurden aber keine Incisionen gesetzt. Mit diesem "Kontroll"-Tier sollte ausgeschlossen werden, daß die, bei den operierten und mit Pseudowut-Viren infizierten Tieren, aufgetretenen flächenhaften Hautveränderungen nicht allein durch das Trauma "Enthaarung" hervorgerufen werden.

Die Rückenhaut aller infizierten Tiere wurde für die histologische Untersuchung excidiert.

c) Versuchsreihe IV

Pseudowut-Viren wurden in einer Konzentration von 10^7 VE/ml intraperitoneal appliziert. Den 4 Kaninchen mit insgesamt 43 Wunden wurden je 0,5 ml der Viruslösung i.p. injiziert. Post mortem wurden wieder alle Wunden excidiert.

4. Versuchsreihen V und VI

a) Allgemeines

In den Versuchsreihen V und VI wurden Vaccinia-Viren, Stamm "Elstree", zu verschiedenen Zeitpunkten, 4 bzw. 8 Tage praeoperativ, intravenös injiziert. Von den 11 verwendeten Kaninchen wurden 9 Tiere mit insgesamt 115 Wunden

mit den Viren infiziert, 2 Tiere mit insgesamt 22 Wunden erhielten die Kontroll-Lösung. Bei einem Tier wurden die Wunden excidiert.

b) Versuchsreihe V

Vaccinia-Viren wurden in einer Konzentration von 10^7 VE/ml 4 Tage prae operatione intravenös injiziert. Von den 5 Kaninchen erhielten 4 Tiere mit insgesamt 54 Wunden je 0,5 ml der Viruslösung, 1 Tier mit 12 Wunden erhielt 0,5 ml der Kontroll-Lösung.

c) Versuchsreihe VI

Vaccinia-Viren wurden in einer Konzentration von 10^7 VE/ml 8 Tage prae operatione intravenös injiziert. Das Virus wurde an 6 Kaninchen getestet. 5 Tiere mit insgesamt 61 Wunden erhielten je 0,5 ml der Viruslösung, 1 Tier mit 10 Wunden erhielt 0,5 ml der Kontroll-Lösung. Bei einem Kaninchen wurden p.m., am 4. postoperativen Tag alle Wunden excidiert.

II. E r g e b n i s s e

1. Wundheilungsverlauf

a) Versuchsreihen I und II

In beiden Versuchsreihen zeigte sich, daß ein großer Teil der Wunden der, mit Vaccinia-Viren infizierten Kaninchen eine deutliche Störung im Heilungsverlauf aufwies. Das Ausmaß der Wundheilungsstörung war vom Infektionsweg abhängig. Die Störung war charakterisiert durch Rötung, Schwellung und Verzögerung der vollständigen Abheilung um 8 - 10 Tage. Eine bakterielle Superinfektion wurde durch die Untersuchung von Wundabstrichen ausgeschlossen. Die Kontroll-Wunden heilten alle komplikationslos ab.

Ergebnisse der Versuchsreihe I :

5 infizierte Kaninchen: 55 Wunden

Vaccinia-Viren, 10^7 VE/ml, i.v.

2 Kontroll-Kaninchen : 20 Wunden

RAF, i.v.

Ablauf der Wundheilung bei den infizierten Kaninchen:

Am 5. und 8. postop. Tag starben 2 Kaninchen mit je 11 Wunden. Die pathologisch-anatomische Untersuchung ergab eine mit submiliaren Nekrosen durchsetzte Leber, Milzschwellung und leichte Rötung der Darmschleimhaut. Der Ablauf der Wundheilungsstörung unterschied sich nicht von dem der anderen Tiere.

1. postop. Tag:	0 Wunden gestört	= 0 %
2. postop. Tag:	6 Wunden gestört	= 10,9 %
3. postop. Tag:	12 Wunden gestört	= 21,8 %
4. postop. Tag:	22 Wunden gestört	= 40 %
5. postop. Tag:	26 Wunden gestört	= 47,5 %
6. postop. Tag:	27 Wunden gestört	= 61,5 % (von 44 Wunden)
7. postop. Tag:	33 Wunden gestört	= 75 %
8. postop. Tag:	38 Wunden gestört	= 86,5 %
9. postop. Tag:	28 Wunden gestört	= 85 % (von 33 Wunden)
10. postop. Tag:	25 Wunden gestört	= 76 %
11. postop. Tag:	23 Wunden gestört	= 70 %
12. postop. Tag:	20 Wunden gestört	= 60,5 %
13. postop. Tag:	18 Wunden gestört	= 54,5 %
14. postop. Tag:	14 Wunden gestört	= 42,5 %
15. postop. Tag:	12 Wunden gestört	= 36,5 %
16. postop. Tag:	8 Wunden gestört	= 24,2 %
17. postop. Tag:	7 Wunden gestört	= 21,2 %
18. postop. Tag:	6 Wunden gestört	= 18,2 %
19. postop. Tag:	4 Wunden gestört	= 12,1 %
20. postop. Tag:	3 Wunden gestört	= 9,1 %
21. postop. Tag:	1 Wunde gestört	= 3 %
22. postop. Tag:	1 Wunde gestört	= 3 %
23. postop. Tag:	0 Wunden gestört	= 0 %

Ablauf der Wundheilung bei den Kontroll-Kaninchen:

Alle 20 Wunden heilten komplikationslos innerhalb von
6 - 8 Tagen ab.

Ergebnisse der Versuchsreihe II :

4 infizierte Kaninchen: 48 Wunden

Vaccinia-Viren, $10^{7,5}$ VE/ml, i.p.

1 Kontroll-Kaninchen : 10 Wunden

RAF, i.p.

Ablauf der Wundheilung bei den infizierten Kaninchen:

1. postop. Tag:	0 Wunden gestört	= 0 %
2. postop. Tag:	4 Wunden gestört	= 8,3 %
3. postop. Tag:	7 Wunden gestört	= 14,6 %
4. postop. Tag:	15 Wunden gestört	= 31,3 %
5. postop. Tag:	20 Wunden gestört	= 41,7 %
6. postop. Tag:	31 Wunden gestört	= 65 %
7. postop. Tag:	38 Wunden gestört	= 79 %
8. postop. Tag:	26 Wunden gestört	= 70,5 % (von 37 Wunden)
9. postop. Tag:	24 Wunden gestört	= 65 %
10. postop. Tag:	19 Wunden gestört	= 51 %
11. postop. Tag:	11 Wunden gestört	= 29,7 %
12. postop. Tag:	11 Wunden gestört	= 29,7 %
13. postop. Tag:	9 Wunden gestört	= 24,5 %
14. postop. Tag:	7 Wunden gestört	= 19 %
15. postop. Tag:	5 Wunden gestört	= 13,5 %
16. postop. Tag:	3 Wunden gestört	= 8,1 %
17. postop. Tag:	2 Wunden gestört	= 5,4 %
18. postop. Tag:	1 Wunde gestört	= 2,7 %
19. postop. Tag:	0 Wunden gestört	= 0 %

Am 7. postop. Tag starb 1 Kaninchen mit 11 Wunden. Die pathologisch-anatomische Untersuchung ergab submiliare Lebernekrosen, Rötung der Darmschleimhaut, aber keinen Parasitenbefall. Der Ablauf der Wundheilungsstörung unterschied sich nicht von dem der anderen Tiere.

Ablauf der Wundheilung beim Kontroll-Kaninchen:

Alle 10 Wunden heilten komplikationslos innerhalb von 7 Tagen ab.

Die Versuchsreihen I und II zeigen, daß Vaccinia-Viren in der Lage sind den Heilungsverlauf einer Wunde zu stören und zwar nicht nur wenn sie direkt in die Wunde eingebracht

werden (Brückner W.L., Lewitzka, 1972), sondern auch bei intravenöser und intraperitonealer Injektion. Von den insgesamt 103 Wunden der infizierten Kaninchen zeigten 87 Wunden deutliche Zeichen einer gestörten Wundheilung. Die 30 Kontrollwunden heilten alle komplikationslos ab.

Das Ausmaß der Wundheilungsstörung ist abhängig vom Infektionsweg. Es ist - trotz der bei Versuchsreihe II verwendeten höheren Viruskonzentration - bei intravenöser Injektion der Vaccinia-Viren größer als bei intraperitonealer Injektion: Am 7. bzw. 8. postop. Tag sind bei intravenöser Injektion 86,5 % der Wunden in ihrem Heilungsverlauf gestört, bei intraperitonealer Injektion dagegen nur 79 % der Wunden.

Der zeitliche Beginn und der Ablauf der Wundheilungsstörung zeigt keine nennenswerten Unterschiede. Erste Anzeichen einer Störung waren in beiden Versuchsreihen am 2. postop. Tag zu beobachten. Alle Wunden waren nach 20 Tagen vollständig abgeheilt.

Auf die biomathematische Auswertung der Ergebnisse, insbesondere auf die Berechnung von Signifikanz, haben wir bewußt verzichtet. Beurteilung von Wundheilungsverläufen, histologische Untersuchungen etc. sind ohne Zweifel sehr vom Beobachter abhängig und lassen sich nicht in ein starres mathematisches Schema pressen. Die Unterschiede im Heilungsverlauf bei den verschiedenen infizierten Tieren waren aber so auffällig, daß sie reproduzierbar sein dürften.

Abb. 2 zeigt die Abhängigkeit zwischen dem Infektionsweg und dem Ausmaß der Wundheilungsstörung für Vaccinia-Viren.

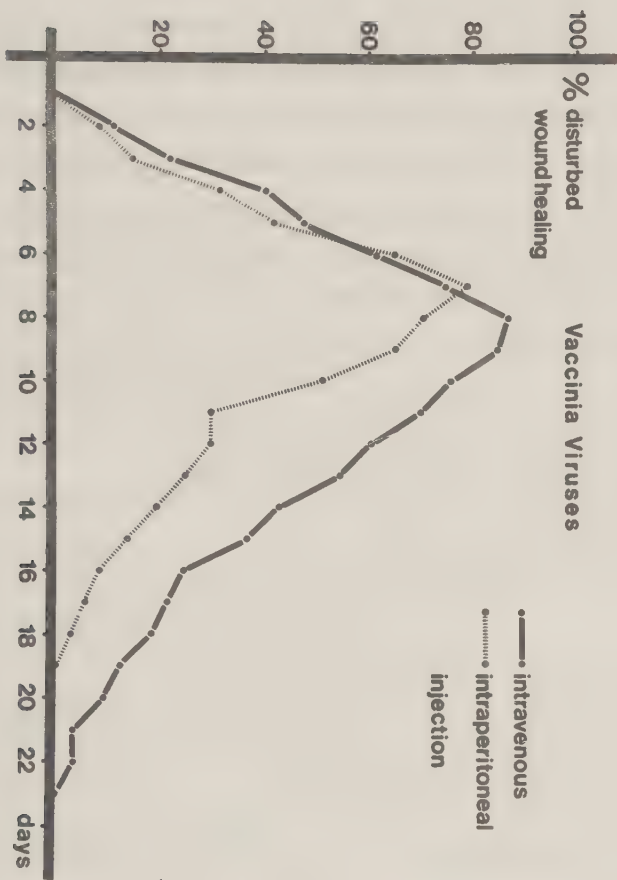


Abb. 2

Text s.S.36

b) Versuchsreihen III und IV

In beiden Versuchsreihen kam es bei einem großen Teil der Wunden der mit Pseudowut-Viren infizierten Kaninchen zu einer schweren Störung der Wundheilung. Die Wundheilungsstörung war charakterisiert durch Rötung, Schwellung, ausgedehnte Hautveränderungen und, in einigen Fällen, Dehiscenz. Bakteriologische Untersuchungen von Wundabstrichen ergaben keine Anhaltspunkte dafür, daß diese Veränderungen durch bakterielle Superinfektion verursacht sein könnten. Die Kontrollwunden heilten alle komplikationslos ab. Das Ausmaß der Wundheilungsstörung war, wie bei den Vaccinia-Viren, vom Infektionsweg abhängig.

Ergebnisse der Versuchsreihe III :

4 infizierte Kaninchen: 38 Wunden

Pseudowut-Viren, 10^7 VE/ml, i.v.

1 infiziertes Kaninchen: Ohne Wunden

Pseudowut-Viren, 10^7 VE/ml, i.v.

1 Kontroll-Kaninchen: 10 Wunden

RAF, i.v.

Ablauf der Wundheilung bei den infizierten Kaninchen:

1. postop. Tag: 0 Wunden gestört = 0 %
2. postop. Tag: 21 Wunden gestört = 55 %
3. postop. Tag: 29 Wunden gestört = 76 %
4. postop. Tag: 9,5 Wunden gestört = 95 %

Am 3. postop. Tag starben 3 Kaninchen mit 28 Wunden.

Infektionsverlauf beim infiz. Kaninchen ohne Wunden:

Am enthaarten Rücken des Tieres zeigten sich am 4. postoperativen Tag außer zwei kleinen Kratzwunden, als Folge des, bei Pseudowutinfektion auftretenden, Juckreizes, keine der oben beschriebenen Hautveränderungen.

Ablauf der Wundheilung beim Kontroll-Kaninchen:

Alle 10 Kontrollwunden heilten komplikationslos innerhalb von 6 - 8 Tagen ab.

Ergebnisse der Versuchsreihe IV :

4 infizierte Kaninchen: 43 Wunden

Pseudowut-Viren, 10^7 VE/ml, i.p.

Ablauf der Wundheilung bei den infizierten Kaninchen:

1. postop. Tag: 0 Wunden gestört = 0 %
2. postop. Tag: 17 Wunden gestört = 39,5 %
3. postop. Tag: 23 Wunden gestört = 53,5 %
4. postop. Tag: 8,5 Wunden gestört = 85 %

Am 3. postop. Tag starben 3 Kaninchen mit 33 Wunden.

Da in Versuchsreihe III und IV am 4. postop. Tag nur noch je 1 Kaninchen lebte, sind die Ergebnisse 95 % und 85 % mit Vorsicht zu betrachten.

Die Versuchsreihen III und IV zeigen, daß auch Pseudowut-Viren den Heilungsverlauf einer Wunde erheblich stören können.

Das Ausmaß der Wundheilungsstörung ist vom Infektionsweg abhängig. Es ist bei intravenöser Injektion der Pseudowut-Viren größer als bei intraperitonealer Injektion:

Am 4. postop. Tag sind bei intravenöser Injektion 95 % der Wunden, bei intraperitonealer Applikation nur 85 % der Wunden gestört. Dieses Verhältnis zeigte sich auch schon an den vorhergehenden Tagen.

Die mit Pseudowut-Viren infizierten Tiere starben leider alle am 3. bzw. 4. postoperativen Tag an einer zentralnervösen Lähmung. Der Wundheilungsverlauf konnte deshalb nicht bis zu einer möglichen Abheilung beobachtet werden. Bei der pathologisch-anatomischen Untersuchung wurden ein Lungenödem und eine geschwollene und gelblich verfärbte Leber festgestellt. Diese Veränderungen sind bei Pseudowut-Infektion häufig vorhanden.

Abbildung 3 zeigt die Abhängigkeit zwischen dem Infektionsweg und dem Ausmaß der Wundheilungsstörung bei Pseudowut-Viren.

c) Versuchsreihen I, V und VI :

In diesen Versuchsreihen zeigte sich, daß auch eine Vaccinia-Virus-Infektion mehrere Tage vor der Operation noch eine Störung im Wundheilungsverlauf bewirkt. Das Ausmaß der Wundheilungsstörung war vom Zeitpunkt der Infektion abhängig. Die Störung äußerte sich, wie bei Versuchsreihe I beschrieben, durch Rötung und Schwellung. Die Kontrollwunden heilten nahezu alle komplikationslos ab. Auch hier wurden wieder Wundabstriche entnommen und bakteriologisch untersucht.

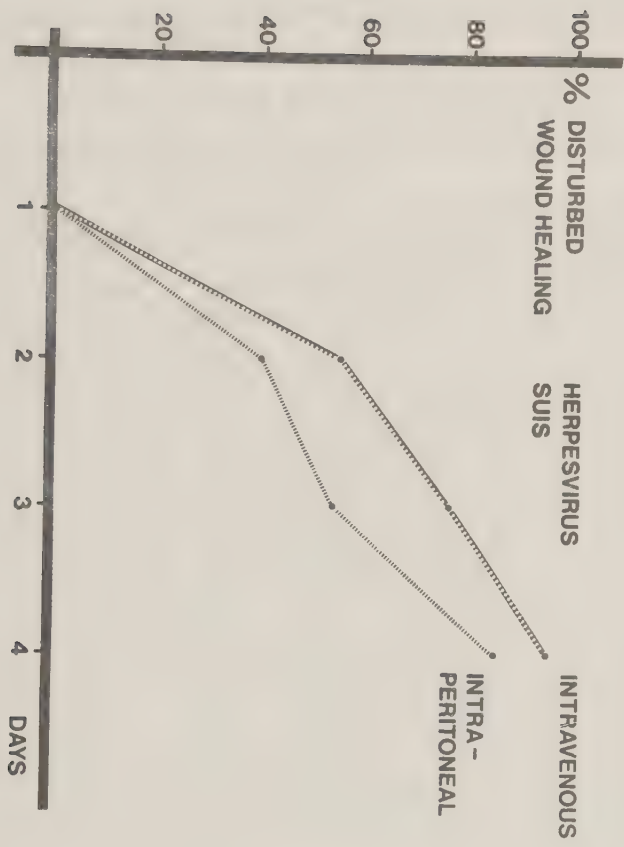


Abb. 3
Text s.S. 40

Ergebnisse der Versuchsreihe V :

4 infizierte Kaninchen: 54 Wunden

Vaccinia-Viren, 10^7 VE/ml

4 Tage praeop., i.v.

1 Kontroll-Kaninchen : 12 Wunden

RAF, 4 Tage praeop., i.v.

Ablauf der Wundheilung bei den infizierten Kaninchen:

1. postop. Tag:	0 Wunden gestört	= 0 %
2. postop. Tag:	3 Wunden gestört	= 5,5 %
3. postop. Tag:	6 Wunden gestört	= 11,5 %
4. postop. Tag:	17 Wunden gestört	= 31,5 %
5. postop. Tag:	32 Wunden gestört	= 59 %
6. postop. Tag:	35 Wunden gestört	= 65 %
7. postop. Tag:	38 Wunden gestört	= 70,5 %
8. postop. Tag:	36 Wunden gestört	= 67 %
9. postop. Tag:	34 Wunden gestört	= 63 %
10. postop. Tag:	23 Wunden gestört	= 42,5 %
11. postop. Tag:	16 Wunden gestört	= 29,5 %
12. postop. Tag:	10 Wunden gestört	= 18,5 %
13. postop. Tag:	7 Wunden gestört	= 13 %
14. postop. Tag:	5 Wunden gestört	= 9,2 %
15. postop. Tag:	4 Wunden gestört	= 7,4 %
16. postop. Tag:	4 Wunden gestört	= 7,4 %
17. postop. Tag:	3 Wunden gestört	= 5,5 %
18. postop. Tag:	2 Wunden gestört	= 3,7 %
19. postop. Tag:	1 Wunde gestört	= 1,8 %
20. postop. Tag:	1 Wunde gestört	= 1,8 %
21. postop. Tag:	0 Wunden gestört	= 0 %

Ablauf der Wundheilung beim Kontroll-Kaninchen:

Alle 12 Kontrollwunden heilten komplikationslos innerhalb von 6 - 8 Tagen ab.

Ergebnisse der Versuchsreihe VI :

5 infizierte Kaninchen: 61 Wunden

Vaccinia-Viren, 10^7 VE/ml

8 Tage praeop., i.v.

1 Kontroll-Kaninchen : 10 Wunden

RAF, 8 Tage praeop., i.v.

Ablauf der Wundheilung bei den infizierten Kaninchen:

1. postop. Tag:	0 Wunden gestört	= 0 %
2. postop. Tag:	0 Wunden gestört	= 0 %
3. postop. Tag:	6 Wunden gestört	= 9,8 %
4. postop. Tag:	10 Wunden gestört	= 16,4 %
5. postop. Tag:	16 Wunden gestört	= 26,2 %
6. postop. Tag:	20 Wunden gestört	= 32,8 %
7. postop. Tag:	23 Wunden gestört	= 37,7 %
8. postop. Tag:	21 Wunden gestört	= 34,5 %
9. postop. Tag:	20 Wunden gestört	= 32,8 %
10. postop. Tag:	18 Wunden gestört	= 29,5 %
11. postop. Tag:	10 Wunden gestört	= 16,4 %
12. postop. Tag:	8 Wunden gestört	= 13,1 %
13. postop. Tag:	3 Wunden gestört	= 4,9 %
14. postop. Tag:	1 Wunde gestört	= 1,6 %
15. postop. Tag:	0 Wunden gestört	= 0 %

Bei einem virus-infizierten Tier wurde bei 5 von 14 Wunden eine bakterielle Infektion (Staphylokokkus aureus) der Stichkanäle mit Eiter und starker Schwellung festgestellt. Bei den Wunden der restlichen Tiere konnte keine bakterielle Superinfektion nachgewiesen werden.

Ablauf der Wundheilung beim Kontroll-Kaninchen:

Auch hier waren 3 von 10 Wunden bakteriell infiziert. Die restlichen 7 Wunden heilten komplikationslos ab.

Die Versuchsreihen I, V und VI zeigen, daß nicht nur eine Vaccinia-Virus-Infektion unmittelbar vor der Wundsetzung eine Heilungsstörung hervorruft, sondern auch eine Virusinfektion 4 bzw. 8 Tage praeoperativ.

Das Ausmaß der Wundheilungsstörung ist vom Zeitpunkt der Infektion abhängig:

Bei der Virusinfektion unmittelbar vor der Operation ergab sich eine maximale Wundheilungsstörung von 86,5 %, bei einer Infektion 4 Tage praeoperativ eine maximale Heilungsstörung von 70,5 % und bei einer Infektion 8 Tage praeoperativ eine maximale Heilungsstörung von 37,7 %.

Auch der zeitliche Ablauf der Wundheilungsstörung zeigt eine deutliche Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Infektion: So waren Wunden der Versuchsreihe I erst nach ca 23 Tagen, Wunden der Versuchsreihe V nach ca 21 Tagen und Wunden der Versuchsreihe VI schon nach ca 15 Tagen abgeheilt.

Abbildung 4 zeigt die Abhängigkeit zwischen dem Zeitpunkt, der Infektion und dem Ausmaß der Wundheilungsstörung bei Vaccinia-Viren.

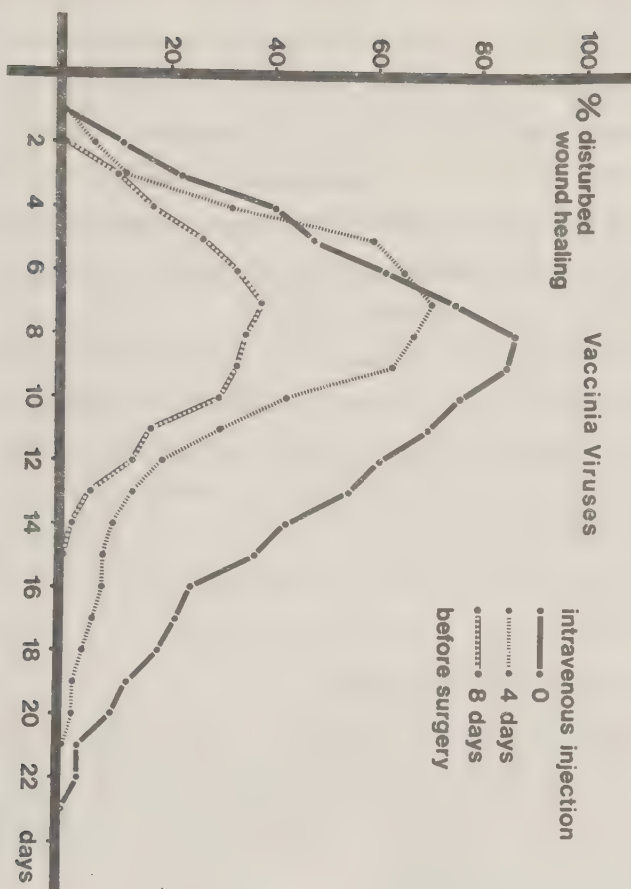


Abb. 4

Text s.S.44

2. Histologie

a) Versuchsreihen I, II, V und VI

In diesen Versuchsreihen wurden Vaccinia-Viren injiziert. Bei der histologischen Untersuchung von Wunden, die deutliche Zeichen einer gestörten Heilung zeigten, ergab sich, unabhängig vom Infektionsweg und dem Zeitpunkt der Virusapplikation, etwa folgendes Bild:

Auf den Wundrändern finden sich vereinzelt dünne nekrotische Membranen. Im Wundgrund läuft eine entzündliche Reaktion mit Hyperämie und Infiltration von Rundzellen und Riesenzellen ab. Die Entzündung zeigt - im Gegensatz zu ebenfalls untersuchten Kontrollwunden - nur geringe Tendenz, sich zu den Wundrändern hin auszubreiten.

b) Versuchsreihen III und IV

In diesen Versuchsreihen wurden Pseudowut-Viren injiziert. Bei der histologischen Untersuchung von Wunden, die deutliche Zeichen einer Heilungsstörung zeigten, ergab sich etwa folgendes Bild:

Der Wundgrund ist stark entzündet und hyperämisch. Es sind viele Lymphozyten, neutrophile Granulozyten, Histiozyten und Fibroblasten zu sehen. Die Entzündung zeigt keine Tendenz zur seitlichen Ausbreitung in die Wundränder. Die Wundränder sind völlig reaktionslos und größtenteils nekrotisch. Es fehlt jede entzündliche Reaktion und jede

Abwehrwallbildung, wie das bei einer bakteriellen Infektion zu beobachten ist. Außerdem finden sich oberflächliche Hautnekrosen, Nekrosen im Bereich der Subcutis, des Kollagens und besonders ausgeprägt in der Muscularis.

Im Gegensatz dazu wurde bei allen untersuchten Kontrollwunden ein normaler Heilungsverlauf festgestellt, mit Neubildung von Kollagen, Gefäßbeinsprossung und einer Wiederherstellung der epidermalen Hautschichten.

Die Folgen einer bakteriellen Infektion bei der Wundheilung sind hinreichend klinisch bekannt (WYSOCKI, 1973) und experimentell belegt. Das pathologisch-anatomische Bild der bakteriellen Entzündung wird durch drei grundlegende Prozesse charakterisiert, nämlich Exsudation flüssigen und zelligen Materials, Proliferation von mesenchymalem Gewebe und Alteration des präexistenten Gewebes im Sinne einer Schädigung bis hin zur Nekrose. Die proliferativen Vorgänge sind gekennzeichnet durch Gefäßsprossen, Fibroblasten und Histiozyten, welche um den Entzündungsherd eine Granulationsmembran (pyogenetische Membran) bilden. Dieser bei bakteriellen Infektionen übliche Ablauf entzündlicher Gewebsreaktionen konnte von uns bei virusbedingter Wundinfektion nicht beobachtet werden: Histologisch wurden ausgedehnte Nekrosen ohne entsprechende entzündliche Reaktion gefunden. Diese Art von sog. aseptischen, d.h. abakteriellen Wundheilungsstörungen wurde bisher in der Klinik auf hormonelle Störungen, Malnutrition und Stoffwechselstörungen zurückgeführt. Unsere Untersuchungen zeigen jedoch, daß eine Virusinfektion ebenfalls in Frage kommen kann.

DISKUSSION

I. Gegenüberstellung der eigenen Arbeit mit der Literatur

1. Klinische Beobachtungen

TORSTENSON und Mitarbeiter (1970) berichten von einem dreijährigen Jungen, der sieben Tage nach einer Impfung mit Vaccinia-Viren eine 25 %ige Verbrennung zweiten Grades an Brust und Armen erlitt, die bis zum 16. posttraumatischen Tag ohne Störung heilte. In der Folgezeit traten auf der Impfseite, außerhalb der Verbrennungsareale, kleine Bläschen und erythematöse Papeln mit weißen Zentralnekrosen auf. Aus den Läsionen konnten Vaccinia-Viren gezüchtet werden. Der Patient starb am 18. Tag nach der Verbrennung. Vaccinia-Viren wurden in keinem anderen Gewebe als der Haut gefunden. TORSTENSON nimmt an, daß dieses Virus in die Liste der Mikroorganismen aufgenommen werden kann, die den Heilungsverlauf nach ausgedehnten Verbrennungen komplizieren können. Auf Grund der Versuchsergebnisse dieser Arbeit mit Vaccinia-Viren kann diese Ansicht bestätigt werden.

SCOTT und Mitarbeiter (1952) beobachteten einen zweijährigen Jungen, der sich den Ellbogen aufgeschürft hatte. An der Verletzungsstelle und sekundär auch in der Umgebung kam es zum Auftreten einer Infektion mit Bläschen, aus denen Viren isoliert werden konnten. Beide Eltern hatten zu dieser Zeit einen Herpes labialis. Auch FINDLAY und Mac CALLUM

(1940) haben Herpesvirus-Infektionen in Hautabschürfungen und Stichverletzungen beschrieben.

FOLEY und Mitarbeiter (1970) berichten von einer Infektion mit Herpesvirus hominis bei sechs Patienten mit Verbrennungen. Zwei von ihnen starben an einer disseminierten Herpesinfektion. Die Virus-Infektion könnte die primäre Ursache gewesen sein. Die Möglichkeit einer reaktivierten Infektion, die zu einer ausgedehnten Erkrankung auf Grund eines posttraumatischen immunologischen Defektes führte, kann nicht ausgeschlossen werden.

GALLAGHER (1970) berichtet von einem zweieinhalbjährigen Mädchen, das sich im Alter von sechs Monaten die rechte Hand an einem Ofen verbrannt hatte. In der Folgezeit wurde diese Hand infiziert. Nachdem diese "Infektion" wieder abgeklungen war, entwickelten sich im Bereich der ehemaligen Brandwunden bläschenartige Ausschläge. Dies wiederholte sich acht bis neun mal in den folgenden zwei Jahren. GALLAGHER glaubt annehmen zu dürfen, daß diese "Infektion", die sich bald nach der Verbrennung entwickelte, eher auf eine Herpes simplex Virus-Infektion, als auf eine bakterielle Infektion zurückzuführen sei.

Diese klinischen Beobachtungen zeigen, daß nicht nur Bakterien und andere bekannte Faktoren, sondern auch Viren - in diesen Fällen Vaccinia- und Herpes-Viren - den Heilungsverlauf von Hautverletzungen komplizieren können. Sie können daher durchaus mit den experimentellen Ergebnissen

dieser Arbeit verglichen werden, da wir bei unseren Versuchen ebenfalls ein Herpes-Virus (Pseudowut-Virus) und Vaccinia-Viren verwendet haben.

2. Andere experimentelle Arbeiten

ENGLER, BAER et al. (1966) führten mehrere Serien von Tierexperimenten durch, bei denen erwachsenen Hamstern, nach Fraktur eines Beines oder Exzision des zweiten Oberkiefermolaren, in verschiedenen Intervallen ein osteolytischer Stamm des Ratten-Virus (OLV) intravenös injiziert wurde. Kontrolltiere erhielten nur die Virusnährlösung. Die Knochenwunden wurden histologisch untersucht; außerdem wurden Virustiterbestimmungen im Frakturbereich durchgeführt. Die Versuche ergaben eine deutliche Beeinflussung der Knochenheilung durch das Ratten-Virus. Eine maximale Störung wurde erreicht, wenn die Viren vor dem 3. postoperativen Tag appliziert wurden.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen lassen sich in einigen Punkten durchaus mit den Ergebnissen unserer Arbeit vergleichen. Auch bei unseren Versuchen zeigte sich nach intravenöser Injektion der Viren eine deutliche Heilungsstörung. Sie war maximal ausgeprägt, wenn die Viren am Operationstag injiziert wurden.

II. Eigene Arbeit - Besprechung, Kritik

Die vorliegenden Untersuchungen haben gezeigt, daß Pseudowut-Viren und Vaccinia-Viren in der Lage sind, den Heilungsverlauf von Schnittwunden zu beeinflussen, wenn sie intravenös oder intraperitoneal appliziert werden. Offenbar gelangen die Viren auf hämatogenem Weg an die Verletzungsstelle und sammeln bzw. vermehren sich dort in genügender Zahl, um die Wundheilung zu beeinträchtigen. ENGLER et al. (1966) konnten durch Titerbestimmungen einen Anstieg der Viruskonzentration im Bereich eines Knochenbruches nachweisen. Andere Untersuchungen ergaben, daß die Ansiedlung von Viren und eine Schädigung durch Viren vermehrt an Druckpunkten, Reibungszonen und frischen Verletzungen auftreten (RICKETTS und BYLES, 1908; PLATT, 1960). Bei meinen Versuchen wurde kein Virus-Nachweis im Bereich der Hautwunden durchgeführt. Dies wäre nur in enger Zusammenarbeit mit einem Viruslabor möglich gewesen und hätte zahlreiche neue Versuchsserien erfordert, da hier nicht nur der reine Virusnachweis, sondern auch Höhe und Verlauf der Virustiter im Wundbereich, im Blut und evtl. auch in unverletzten Geweben, wichtig wären. Dies hätte aber den Rahmen dieser - Chirurgischen - Arbeit gesprengt. Durch Kontrolltiere, Abstriche, histologische Untersuchungen usw. konnten aber andere Störfaktoren der Wundheilung weitgehend ausgeschlossen werden. Die beobachteten Heilungsstörungen sind daher unserer Meinung nach durch die Viren

verursacht.

Es gibt zwei Möglichkeiten, die die Ansiedlung von Viren im Wundgebiet erklären könnten. Entweder bevorzugen Viren Orte erhöhter Stoffwechsel- und Mitoseaktivität, wie sie in jeder Wunde vorkommen, oder die Viren werden passiv auf Grund der entzündungsbedingten, erhöhten Kapillarpermeabilität in der Verletzungsstelle angesammelt. In diesem letzteren Fall könnte dann durch die Proliferation neuen Gewebes Substrat für das Viruswachstum bereitgestellt werden. Viren werden von den Wirtszellen aufgenommen oder injizieren ihre Nukleinsäure aktiv in die Zellen. Sie vermögen den Zellmetabolismus derart umzusteuern, daß nicht mehr oder nicht nur zelleigene Stoffe, sondern Virussubstanz reproduziert wird. Dadurch werden die Wirtszellen geschädigt oder zumindest verändert, was im Gesamtorganismus zu Krankheitserscheinungen führen kann bzw. bei unseren Versuchen die Wundheilungsstörungen erklären könnte.

Das Ausmaß der Wundheilungsstörung und der zeitliche Ablauf der Wundheilung verringerten sich, wenn die Viren vier bzw. acht Tage vor dem Operationstermin appliziert wurden. Dieses Untersuchungsergebnis wird durch die Tatsache bestätigt, daß als Folge einer Virusinfektion Abwehrmechanismen auftreten, die zunehmend Viren inaktivieren und schließlich zur "Autosterilisation" des Organismus führen (MAYR, 1961). Humorale Antikörper können nur frei in der Blutbahn zirkulierende Viren neutralisieren. Am Ort der Virusvermehrung treten andere Mechanismen (Interferon, zellvermittelte

Immunreaktionen, lokale Säurebildung, Fieber etc.) hervor, die heute als wahrscheinlich wichtiger angesehen werden. Ein Agammaglobulinpatient ist z.B. ohne weiteres in der Lage, eine Virusinfektion zu überwinden.

Außerdem stellte ich bei intraperitonealer Injektion der Viren (die Vaccinia-Viren wurden intraperitoneal sogar in höherer Konzentration injiziert) eine geringere Heilungsstörung fest, als bei intravenöser Injektion. Hier möchte ich auf die Untersuchungen von GERLACH und SCHWEINBURG (1935) mit Pseudowut-Viren hinweisen. Sie prüften durch Verimpfung von Grenzverdünnungen infektiöser Kaninchengehirnsuspensionen die Empfänglichkeit von Kaninchen bei verschiedenen Infektionswegen. Sie stellten dabei fest, daß die intrazerebrale, korneale und intraokuläre Infektion in den höchsten Verdünnungen angehen, gefolgt von sc., im., intravenöser und icut. Infektion, während für die intraperitoneale Infektion etwas höhere Dosen nötig sind.

Aus der Beobachtung, daß einige tierpathogene Virusarten die Wundheilung bei Tieren stören können, kann nicht zwingend gefolgert werden, daß ein humanpathogenes Virus in der Lage ist, die Wundheilung beim Menschen zu beeinflussen. Diese Schlußfolgerung muß jedoch - insbesondere unter Berücksichtigung der oben erwähnten Beobachtungen anderer Autoren - in Erwägung gezogen werden. Ein wichtiger Beweis würde geliefert werden, wenn aus Wunden mit verzögerter Heilung Viren gezüchtet werden könnten und sich andere Störfaktoren ausschließen lassen. Solche Untersuchungen

werden aber in der Klinik nicht routinemäßig durchgeführt. Jeder Virusnachweis und vor allem jede einwandfreie Virusidentifizierung ist zeitlich und materiell aufwendig (WIESMANN, 1974). Für fast alle Viren bestehen eigene, besondere Verfahren zur Anzüchtung, einige sind überhaupt nicht züchtbar. Außerdem ist zu bedenken, daß sicher noch nicht alle Virusarten bekannt sind. Trotzdem gibt es bereits Routineverfahren zur Identifizierung und Isolierung zahlreicher Viren, die auch in der Klinik Anwendung finden. Hier müßte auch die virologische Untersuchung von Wundheilungsstörungen einbezogen werden.

Die vorliegende Arbeit ist nur ein Beitrag zum Thema "Der Einfluß von Viren auf die Wundheilung". Es ergeben sich daher zahlreiche Ansatzpunkte für weitere Untersuchungen:

Wichtig wäre es, wie oben erwähnt, Virustiterbestimmungen im Blut, im Wundbereich und zum Vergleich auch in unverletzten Geweben durchzuführen. Damit könnte eine weitere Bestätigung unserer Versuchsergebnisse erbracht werden. Außerdem müßten weitere Viren untersucht werden. Andere Wundarten - z.B. Brandwunden, flächenhafte Defektwunden, Organverletzungen etc. - müssen in ihrer Reaktion auf Viren getestet werden.

ZUSAMMENFASSUNG

An 32 Kaninchen wurde der Einfluß intravenös oder intraperitoneal applizierter Viren auf die Wundheilung untersucht. Es wurden Vaccinia-Viren und Pseudowut-Viren getestet. Zu diesem Zweck wurden auf dem Rücken der Tiere beidseits der Wirbelsäule Schnittwunden gesetzt. Die Viren wurden am Operationstag, oder 4 bzw. 8 Tage praeoperativ injiziert. Zur Kontrolle dienten Kaninchen, die nur die reine Virusnährlösung erhielten.

Der Heilungsverlauf wurde protokollarisch und photographisch festgehalten. Um bakterielle Superinfektionen auszuschließen, wurden Abstriche mikrobiologisch untersucht. Ferner wurden excidierte Wunden histologisch untersucht.

Alle virusinfizierten Kaninchen zeigten eine gestörte Wundheilung. Bei intravenöser Injektion war der Heilungsverlauf stärker verzögert und auch das Ausmaß der Heilungsstörung größer als bei intraperitonealer Injektion. Die Wundheilung verlief schneller und mit geringerer Störung, wenn die Viren 4 oder 8 Tage vor dem Operationstermin appliziert wurden. Die beobachteten Störungen konnten durch histologische Untersuchungen bestätigt werden. Die Ergebnisse der Untersuchung von Wundabstrichen schlossen bakterielle Superinfektionen als Ursache der Heilungsstörungen aus.

LITERATURVERZEICHNIS

Abderhalden, E.: Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden. Urban und Schwarzenberg Verlag, Berlin 1932

Adamsons, R.J., Kahan, S.A.: The rate of healing of incised wounds of different tissues in rabbits. Surg. Gynec. Obstet., 130:837-846, 1970

Andrewes, C.: Viruses of Vertebrates. Ballière Tindall Verlag, London 1964

Aujeszkzy, A.: Über eine neue Infektionskrankheit bei Haustieren. Zbl. Bakt. Orig. 32:353-357, 1902

Babbar, O.P., Chowdhury, B.L.: Possibilities of invivo and invitro reactivation of heat inactivated Vaccinia virus. Indian J. Exp. Biol. 13:378, 1975

Baer, P.N., Garrington, G.E., Kilham, L.: Effect of Age and H-1 Virus on Healing Fractures in Hamsters. J. Gerontol. 26:373-7, 1971

Ball, H.: Über Wundbehandlung und Störungen der Wundheilung im Unfallkrankenhaus Wien. Münch. Med. Wschr. 38: 1251, 1955

Bedson, Sir S., Downie, A.W., Mac Callum, F.O., Stuart-Harris, C.H.: Virus and rickettsial diseases of man. Arnold-Verlag, London 1967

Block, W.: Wundheilungsprobleme. Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1959

Block, W.: Aktuelle Fragen bei Wundheilungsstörungen.
Langenbecks Arch. u. Dtsch. Z. Chir. 289:42-59, 145-146,
1958

Böhler, L.: Wundbehandlung und Störungen der Wundheilung.
Münch. Med. Wschr. 38:1247, 1955

Botsford, T.W.: The tensile strength of sutured skin
wounds during healing. Surg. Gynec. Obstet. 72:69, 1941

Braun, H.: Die Prüfungsmethoden der Wundantiseptik im
Tierexperiment. Klin. Wschr. 1:761-6, 1922

Braun, H., Goldschmidt, R.: Die Methoden der tierexperimentellen Wundinfektion. In Abderhalden, E.: Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden 543-606

Brückner, W.L., Lewitzka, H.J., Mahnel, H., Beck, G.,
Fonkalsrud, E.W.: Influence of pure virus infection on
wound healing. Surgical Forum 23:41-42, ACS Chicago 1972

Brückner, W.L.: Diskussion zur Klinik der Wundheilungs-
störungen. Melsungen Med. Mitteilungen, Band 47, Heft
117:295-297, 1973

Brückner, W.L., Lewitzka, H.J., Mahnel, H., Beck, G.,
Fonkalsrud, E.W.: Tierexperimentelle Untersuchungen über
den Einfluß von Viren auf die Wundheilung. Münch. Med.
Wschr. 18:941-944, 1974

Brückner, W.L., Lewitzka, H.J., Mahnel, H., Beck, G.,
Fonkalsrud, E.W.: Histologische Untersuchungen über den
Einfluß von Viren auf die Wundheilung. Chirurg 47:455, 1976

Brückner, W.L., Gerber, B., et al.: Influence of pure virus infection on wound healing. **Excerpta Medica Intern. Congress**, 389, Internat. College of Surgeons, Athens 1976

Brunius, U.: Healing of skin incisions closed by non-suture technique. *Acta Chir. Scand.* 133:509-516, 1967

Brunner, C.: *Handbuch der Wundbehandlung*. Enke-Verlag, Stuttgart 1916

Bugeac, T.H.: Boala lui Aujeszky la om si animale. *Probl. Zoot. Vet. Bucursti* 5:42-55, 1955

Engler, W.O., Baer, P.N., Kilman, L.: Effects of rat virus on healing osseous wounds. *Arch. Path.* 82:93-98, 1966

Findlay, G.M., Mac Callum, F.O.: Recurrent traumatic herpes. *Lancet* 1:259-261, 1940

Foley, F.D., Greenawald, K.A., Nash, G., Pruitt, B.A.: Herpesvirus infection in burned patients. *New Engl. J. Med.* 282:652-656, 1970

Fraenkel-Conrat, H.: *Chemie und Biologie der Viren*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1974

Fuss, H.: *Möglichkeiten und Grenzen der Wundprophylaxe*. Enke-Verlag, Stuttgart 1955

Gallagher, W.F.: Burn-wound infection with viruses. *New Engl. J. Med.* 282:1272, 1970

Gerlach, F., Schweinburg, F.: Experimentelle Untersuchungen über die Aujeszky'sche Krankheit. *Zschr. f. Infekt. Krh. (1.Mitt.)* 48:270-310, 1935

Golais, F., Sabo, A.: The effect of temperature and urea on virulent and attenuated strains of Pseudorabies virus. Acta Virol. 5:387, 1975

Hanson, R.P.: The history of pseudorabies in the United States. Journ. Am. Vet. Med. Arch. 74:259-261, 1954

Harshad, R.: Abortive Infection of a rabbit cornea cell line by vesicular stomatitis virus: conversion to productive infection by superinfection with vaccinia virus. J. Virol. 2:322, 1975

Hegemann, G.: Standardmethode zur Beurteilung des Wundheilungsverlaufes. Langenbecks Arch. u. Dtsch. Z. Chir. 264:168-173, 1950

Hellner, H.: Die chirurgische Wundinfektion und ihre Behandlung. Chirurg 17/18:385, 1947

Hellner, H.: Praktikum der Chirurgie. Verlag Urban & Schwarzenberg, München 1952

Hernandez-Richter, H.J., Struck, H.: Die Wundheilung. Theoretische und praktische Grundlagen. Thieme-Verlag, Stuttgart 1970

Herrlich, A., Mayr, A.: Vergleichende experimentelle Arbeiten über die "Vaccine-Kuhpocken-Viren". Arch. Hyg., 138:479-504, 1954

Herrlich, A.: Die Pocken. Erreger, Epidemiologie und klinisches Bild. Thieme Verlag, Stuttgart 1967

Hill, J.T., Field, H.J., Blyth, W.A.: Acute and recurrent infection with herpes simplex virus in the mouse: a model

of studying latency and recurrent disease. J. Gen. Virol.
3:341, 1975

Holle, F., Sonntag, E.: Grundriß der gesamten Chirurgie.
Springer-Verlag 1960

Itoiz, M.E., Mayo, J., Cabrini, R.L., Carranza, F.A.:
Histochemical studies of healing wounds: alkaline and acid
phosphatase. J. Oral. Surg. 27:641-4, 1969

Kaplan, A.S., Vatter, A.E.: A comparison of herpes simplex
and pseudorabies-viruses. Virologie 7:394-407, 1959

Kaplan, A.S.: Herpes simplex and pseudorabies viruses.
Springer-Verlag, Wien 1969

Klenerman, L., Coid, C.R., Aoki, F.Y.: Treatment of wounds
from animals suspected of carrying neurotropic viruses.
Brit. Med. J. 5986:740, 1975

Kretzschmar, C.: Die Aujeszky'sche Krankheit. VEB Gustav
Fischer Verlag, Jena 1970

Lewitzka, H.J.: Tierexperimentelle Untersuchungen über den
Einfluß von Viren auf die Wundheilung. Diss., Med. Fak.
der Univ. München, 1974

Lindner, J., Huber, P.: Biochemische und morphologische
Grundlagen der Wundheilung und ihrer Beeinflussung. Med.
Welt 24:897-911, 1973

Löfström, B., Zederfeldt, B.: Wound healing after induced
hypothermia. Acta Chir. Scand. 113:272-281, 1957

Löhr, W.: Wundheilung. Joh. Ambr. Barth Verlag, Leipzig
1937

Mahnel, H.: Experimentelle Untersuchungen über das S-Antigen und seine Antikörper beim Vaccine- und Kuhpockenvirus. Diss. München 1955

Mahnel, H.: Tierexperimentelle Untersuchungen mit Vaccine-Antigen. Arch. Virusforsch. 10:529-539, 1960

Marchand, F.: Der Prozeß der Wundheilung mit Einschluß der Transplantation. Dtsch. Chir., Lief. 16, 1901

Mayr, A., Herrlich, A.: Cultivation of the variola virus in the infantile mouse. Arch. Ges. Virusforsch. 10:226-35, 1960

Mayr, A., Strohmaier, K., Lorenz, R.: Changes in chemical-physical properties of the virus of Teschen disease of swine during the modification process by successive passages in swine kidney cultures. Arch. Ges. Virusforsch. 11: 183-96, 1961

Mayr, A., Mahnel, H., Munz, E.: Systematisierung und Differenzierung der Pockenviren. Zbl. Vet. Med. B 19:69, 1972

Platt, H.: The localization of lesions in experimental foot-and-mouth disease. Brit. J. exp. Path. 41:150-9, 1960

Postlethwait, R.W., Schauble, J.F., Dillon, M.L. Morgan, J.: Wound healing. Surg. Gynec. Obstet. 108:555-566, 1959

v. Ratz, S.: Fütterungsversuche mit dem Virus der infektiösen Bulbärparalyse. Zschr. Inf. Krankh. Haust. 13:1-7, 1913

Ricketts, T.F., Byles, J.B., in "Diagnosis of Smallpox", p.7. Cassell, London 1908

Röhrer, H.: Handbuch der Virusinfektionen bei Tieren.
Gustav Fischer Verlag, Jena 1967

Rostock, P.: Die Wunde. W. de Gruyter - Verlag, Berlin
1950

Sandberg, N.: Experimental Studies on Wound Healing.
Carl Bloms Boktryckeri A.-B., Lund 1963

Sandblom, P.H., Muren, A.: Differences between the rate
of healing of wounds inflicted with short time interval.
Ann. Surg. 140:449-458, 1954

Savlov, E.D., Dunphy, J.E.: Mechanisms of wound healing.
Comparison of preliminary local and distant incisions.
New Engl. J. Med. 250:1062-1065, 1954

Scott, T.F., et al.: Some comments on herpetic infection
in children with special emphasis on unusual clinical
manifestations. J. Pediat. 41:835-843, 1952

Seiffert, G.: Virus und Viruskrankeheiten bei Menschen,
Tieren und Pflanzen. Th. Steinkopff Verlag, Dresden und
Leipzig 1938

Shope, R.E.: An experimental study of "Mad Itch" with
especial reference to its relationship to pseudorabies.
J. Exp. Med. 54:233-248, 1931

Smith, W.: Mechanisms of virus infection. Academic Press,
London/New York 1963

Soni, N.N., Sinkford, J.C., Whitehurst, V.E., Knight, R.S.:
The effect of the deficiency of vitamin A, and pantothenic
acid, and virus in fracture healing. Ann. Dent. 33:58-65,
1974

Starke, G., Hlinak, P.: Grundriß der allgemeinen Virologie. G. Fischer-Verlag, Stuttgart, 1972

Stern, H., Elek, S.D., Millar, D.M.: Herpetic Whitlow: A form of cross-infection in hospitals. Lancet 2:871-4, 1959

Torstenson, O.L., Meyer, W.J., Quie, P.G.: Burn-wound infection with viruses. New Engl. J. Med. 282:1272-73, 1970

Tuncman, Z.M.: La maladie d'Aujeszky observée chez l'homme. Ann. Inst. Pasteur 60:95-98, 1938

Ungeheuer, E.: Wundheilung und Wundnaht. Urban & Schwarzenberg Verlag, München-Berlin-Wien 1967

Vahlne, A., Blomberg, J., Olofsson, S., Lycke, E.: Subtyping of herpes simplex virus. Acta Path. Microbiol. Scand. 5:1975

Wildführ, G.: Medizinische Mikrobiologie, Immunologie und Epidemiologie. G. Thieme - Verlag, Leipzig 1961

Wysocki, S., Oellners, B., Gruss, J.: Klinik der Wundheilungsstörungen. Melsungen Med. Mitteilungen, Bd. 47, Heft 117:287-294, 1973

Young, J.S., Fisher, J.A., Young, M.: Some observations on healing of experimental wounds in skin of rabbit. J. Path. Bact. 52:225, 1941

ANHANG

I. Abbildungen

Abb. 5 zeigt ein Kaninchen der Versuchsreihe I am 8. postoperativen Tag. Dem Tier wurden Vaccinia-Viren intravenös injiziert. Die Wunden zeigen fast alle Veränderungen im Sinne einer gestörten Wundheilung. Die Wunden der Kontroll-Kaninchen dagegen waren am 8. postoperativen Tag bereits abgeheilt.

Abb. 6 zeigt die Wundverhältnisse an einem Kaninchen der Versuchsreihe IV am 3. postoperativen Tag. Dem Tier wurden Pseudowut-Viren intraperitoneal injiziert. Ein Teil der Wunden zeigt Wundheilungsstörungen mit starken Veränderungen, besonders auf der rechten Seite.

Abb. 7 zeigt ein Kaninchen der Versuchsreihe III am 3. postoperativen Tag. Dem Tier wurden Pseudowut-Viren intravenös injiziert. Die Wunden zeigen bereits starke Veränderungen im Sinne einer gestörten Wundheilung.

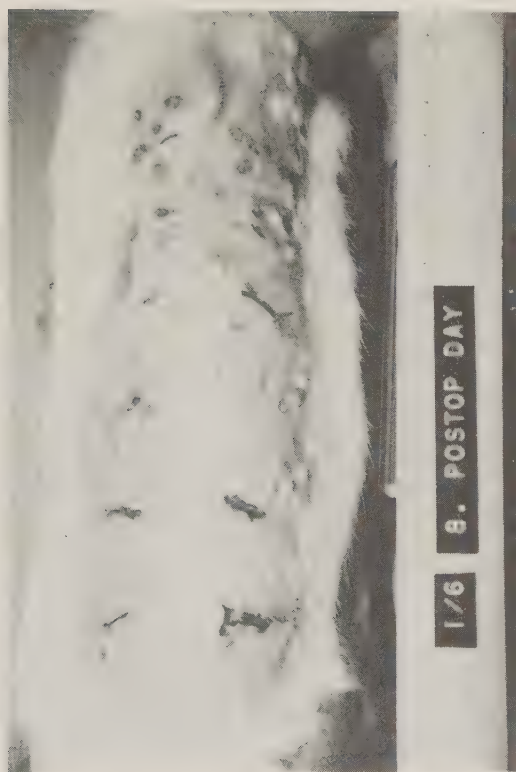


Abb. 5

Text s.8.63

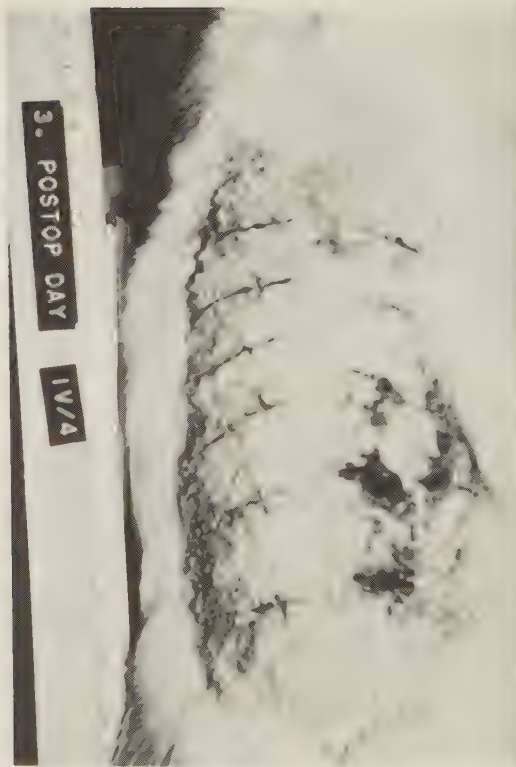
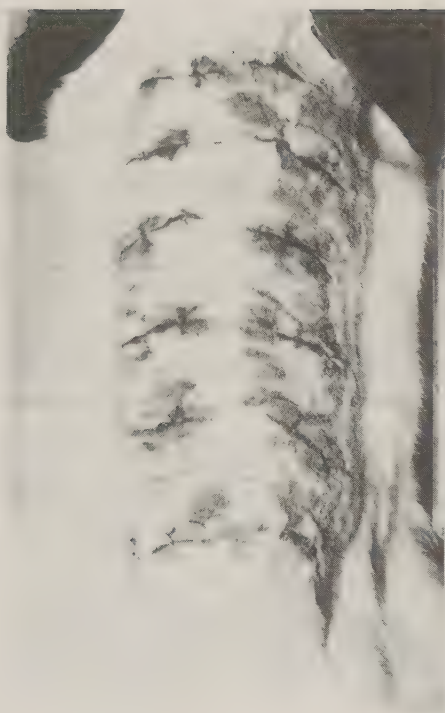


Abb. 6

Text s.S.63



3. POSTOP DAY 111/6

Abb. 7

Text s.S.63

II. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich besonders herzlich Herrn Priv.-Doz. Dr. W. L. Brückner danken für die Überlassung des Themas, seine ständige Bereitschaft, mir zu jeder Zeit mit Rat und Tat bei der Durchführung dieser Arbeit zur Seite zu stehen, sowie für die Korrektur der Dissertation.

Herrn Prof. Dr. F. Holle danke ich für die großzügig gewährten Arbeitsmöglichkeiten an seiner Klinik und für die Übernahme des Korreferates.

Herrn Prof. Dr. H. Mahnel vom Institut für Mikrobiologie und Infektionskrankheiten der Tiere (Direktor: Prof. Dr. A. Mayr) der Universität München danke ich für seine Beratung in allen virologischen Problemen, sowie für die großzügige Bereitstellung der Virus-Lösungen.

Ebenso gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. G. Beck von der Bayrischen Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung (Direktor: Prof. Dr. G. Beck) für seine Beratung in allen tiermedizinischen Fragen und die Bereitstellung von Stallungen. Dieser Dank gilt selbstverständlich auch allen Mitarbeitern seines Hauses, insbesondere Dr. Stritzinger, Dr. Schaudinn, Dr. Schmittdiel und den Tierpflegern.

III. Lebenslauf

Am 28. Dezember 1952 wurde ich, Birgit Maria Barbara Gerber, als Tochter des Diplom-Brauerei-Ingenieurs Hans Gerber und seiner Ehefrau Annemarie Gerber, geb. Brütting, in München geboren.

Von 1959 - 1963 besuchte ich die Volksschule an der Dachauerstraße in München, anschließend den neusprachlichen Zweig des Städt. Luise-Gymnasiums in München, an dem ich im Juni 1972 das Abitur ablegte.

Im Wintersemester 1972/73 immatrikulierte ich mich an der Technischen Universität München für das Studium der Biologie und Chemie.

Im Sommersemester 1973 begann ich das Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München. Hier bestand ich im August 1974 die Ärztliche Vorprüfung, im August 1975 den 1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung und im August 1977 den 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung. Vom 1. Oktober 1977 - 30. September 1978 leistete ich das Praktische Jahr ab: Städt. Krankenhaus Ingolstadt - Chirurgie, Dr. von Hauner'sche Kinderklinik der Universität - Pädiatrie, Medizinische Poliklinik - Innere Medizin. Im Oktober 1978 bestand ich den 3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung.

An dieser Dissertation arbeitete ich von 1975 - 1977. Einige Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen konnten 1976 beim Internat. College of Surgeons in Athen mitgeteilt werden.

